

THESIS

MUNICH

1966

DIE L-MYOSIN-ADENOSINPHOSPHATASE AKTIVITÄT
DES HERZMUSKELS
UNTERSUCHUNGEN AM KANINCHEN

Bernd Marquardt

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. W. SEITZ

DIE L-MYOSIN-ADENOSINPHOSPHATASE AKTIVITÄT
DES HERZMUSKELS
UNTERSUCHUNGEN AM KANINCHEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Bernd Marquardt
aus Kassel

München 1966

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. H. NOWY
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. W. SEITZ
Dekan:	Prof. Dr. R. ZENKER

Tag der mündlichen Prüfung: 12. 7. 1966

I N H A L T

EINLEITUNG	5
METHODIK	6
ERGEBNISSE	10
BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	10
DISKUSSION	15
ZUSAMMENFASSUNG	20
LITERATUR	21



Digitized by the Internet Archive
in 2026

EINLEITUNG

Nachdem eine grosse Zahl von Untersuchungen über den histologischen, histochemischen Aufbau, die elektrische und mechanische Aktivität und die biochemischen Elementarprozesse verschiedenster Muskel angestellt worden sind, ist diesen ein Beitrag über die ATPase Aktivität in den verschiedenen Abschnitten des Kaninchenherzmuskels beizufügen. Die Arbeit wurde u. a. angeregt durch Ergebnisse auf dem Gebiet der Proteinzusammensetzung des Herzmuskels und durch die Mitteilung von HASSELBACH (8a) über die enge Beziehung von maximaler Muskelleistung und ATPase Aktivität einzelner Muskelgewebe.

"Nach heutiger Anschauung beruht die gesamte tierische Motilität auf der Umwandlung chemischer Energie in mechanische Arbeit. Obgleich die Bewegungsformen ungeheuer vielfältig sind, beruhen sie in fast allen Geweben auf dem gleichen Elementarprozess: den Wechselwirkungen zwischen kontraktilen Proteinstrukturen und Adenosintriphosphat (ATP)." (8b)

Die wichtigsten Komponenten des kontraktilen Apparates sind die beiden Proteine Myosin und Aktin. Sie können getrennt aus vielen Muskeln extrahiert werden.

Die Myosine stellen fibrilläre Gerüsteiweisse dar und sind Bausteine der kontraktilen Elemente. Sie haben Globulincharakter und lassen sich in Salzlösungen bei einer Ionenstärke, die kleiner als 0,35 (bei pH 7,4) ist, lösen. Myosinlösungen können aus Muskelbrei durch Extraktion mit geeigneten Salzlösungen durch mehrfaches Ausfällen und Wiederauflösen (in 0,5 M KCl) gewonnen werden. Unter dem eigentlichen Myosin verstehen wir heute das L-Myosin oder auch β -Myosin genannt. Es ist ein stäbchenförmiges Gebilde. Das Molekulargewicht des Herzmuskelmyosins wird mit 758 000 angegeben (4). Allerdings liegen auch niedrigere Werte vor. Ob ein Unterschied in Gewicht und Abmessung zwischen Herzmuskel- und Skelettmuskelmyosin besteht, ist noch nicht entschieden. Einer der wesentlichen Unterschiede zwischen den Myosinen verschiedener Muskelgewebe liegt in der Aktivität ihrer ATPasen, d. h. in dem Anteil des Myosinmoleküls, der ATP zu ADP und Phosphat zu spalten vermag, dem H-Meromyosin. So ist die ATPase des Myosins aus Skelettmuskulatur ungefähr 8 mal aktiver als jene des Herzmuskels (6, 8c).

Das zweite Protein Aktin kann nur durch relativ drastische Methoden aus dem Muskel extrahiert werden (18). Für Aktin sind bisher keine muskelspezifischen Unterschiede gefunden worden (8b). Das Aktin existiert entweder als wenig stabiles längliches Teilchen (G-Aktin) oder als beständigeres Fadenmolekül, das sich durch Aggregation der Einzelteilchen bildet (F-Aktin) (8b).

Die beiden Proteine L-Myosin und Aktin haben eine grosse Affinität zueinander. Sie verbinden sich zu einem Proteinkomplex, der als Aktomyosin oder auch S-Myosin bezeichnet wird. Durch diese Vereinigung entsteht eine ATPase, die sich durch eine wesentlich erhöhte Aktivität gegenüber der L-Myosin-ATPase auszeichnet.

Die Leistungsfähigkeit eines Muskels hängt von der Energiezufuhr (Atmung, Glykolyse und Bereitstellung von energiereichem Phosphat), Intaktheit der kontraktilen Proteine und der Umsetzung der ATP durch die ATPase ab. Durch Freiwerden der Energie bei der Reaktion ATP in ADP und Phosphat entstehen Kontraktionsbindungen zwischen dem Myosin und dem Aktin. Die Kontraktionsbindungen sind nach Zahl und Festigkeit verantwortlich für die maximale Spannungsentwicklung. Die maximale Kontraktionsgeschwindigkeit wird begrenzt durch die Verschieblichkeit der Proteinstrukturen bzw. die Schnelligkeit der Energiefreisetzung. Beide Leistungen sind eng mit der Aktivität der ATPase verknüpft. (8a)

Die Aufgabe der Untersuchungen ist es, die ATPase Aktivität in den einzelnen Abschnitten des Kaninchenherzens zu bestimmen. Dazu ist die Versuchsanordnung von GELOTTE gewählt worden. Die L-Myosin ATPase Aktivität ist dabei an Myosinsolen gemessen worden (6).

METHODIK

1. TIERMATERIAL

Für die Untersuchungen wurden männliche Kaninchen verwendet. Die Tiere wurden nicht besonders ausgewählt und vorbereitet.

2. PRÄPARATION DER HERZEN

Die Versuchstiere wurden mit Urethan betäubt und eine Tracheotomie durchgeführt. Beatmet wurde mit einem Pulmotor mit einer Frequenz von 30/Minute bei mittlerem Hubvolumen. Anschliessend wurde der Thorax durch einen Sternaalschnitt eröffnet, das Herz freipräpariert und vom Gefässband abgetrennt. Das schlagende Herz wurde dann mit Tyrode-Lösung von ungefähr 30°C abgespült und nach Einführen einer Kanüle in die Aorta als Langendorffpräparat kurz durchströmt. Dabei wurde weitgehend alles Fett und Bindegewebe von den Herzwänden entfernt. Nach kurzem Trocknen wurde das Herz in flüssigem Stickstoff bei Verwendung eines vorgekühlten Spießes aus einer grossen Zahl von Stahlnadeln eingefroren. Anschliessend erfolgte die Teilung des Herzens in den linken Ventrikel mit Kammerseptum, den rechten Ventrikel und den Vorhof. Das Muskelgewebe wurde in einem Behälter mit Trockeneis aufbewahrt.

3. EXTRAKTION NACH GELOTTE (6) (Modifikation)

Eingewogen wurden maximal 2 g Herzgewebe. Es wurde bei + 4°C aufgetaut, im Fleischwolf zerkleinert und in 3 ml Gelotte-Extraktionslösung 10 Minuten unter ständigem Mischen extrahiert (Temperatur 0°-1°C). Die Trennung des Muskelbreies von den gelösten Elementen erfolgte durch Zentrifugation bei 2600 U/Minute, 4°C 10-15 Minuten lang. Der Überstand wurde mit gleichen Teilen eisgekühltem Aqua bidest. verdünnt und 2 Stunden bei 4°C aufbewahrt. Durch diese Verdünnung wurde die Ionenaktivität von 0,5 KCl auf 0,25 KCl herabgesetzt. Zur Abtrennung von präzipitiertem Aktomyosin wurde die Lösung nun für 30 Minuten bei 2-4°C mit ungefähr 20 000 U/Minuten zentrifugiert. Der Überstand enthielt das gewünschte Myosin (nach GELOTTE) in weitgehend gereinigter Form. Das Myosin wurde nun durch Verdünnung mit 12 ml Aqua bidest. von 0°C ausgefällt, durch Reduktion der Ionenaktivität von 0,25 KCl auf 0,08 KCl. Nachdem sich das Myosin abgesetzt hatte, wurde nochmals mit 2600 U/Minute bei 4°C 10 Minuten zentrifugiert. Der Bodensatz wurde in 3 ml Extraktionslösung aufgelöst und die Verdünnung und Ausfällung wiederholt. Nach GELOTTE wird so ein gereinigtes Myosin erhalten. Das Material wurde zu weiteren Versuchen in 0,5 M KCl und 0,05 M Phosphatpuffer von pH 7 aufgelöst.

4. BESTIMMUNG DER PROTEINKONZENTRATION NACH KJELDAHL

Zur Bestimmung der Proteinkonzentration wurden Doppelbestimmungen ausgeführt, bei denen jeder Ansatz 1 ml Myosinlösung, 3 ml Veraschungsschwefelsäure und ein Selengemisch enthielt. Der Ansatz wurde solange erhitzt, bis die Lösung vollständig klar und farblos war. Das Veraschungsgemisch wurde nach Abkühlung mit 10 ml Aqua bidest. verdünnt und mit 10 ml Kjeldahlauge (33 %ige NaOH) versetzt. Die Vorlage wurde mit 10 ml n/100 Natronlauge und 2 Tropfen Universalindikator beschickt. Die Destillation im Wasserdampfstrom des Apparates von Parnas-Wagner dauerte 10 Minuten. Nachdestilliert wurde 3 Minuten. Die Titration erfolgte mit n/100 Salzsäure, die gegen n/100 Natronlauge eingestellt war.

5. VISKOSIMETRIE

Die Reinheit des mit der Extraktionsmethode von GELOTTE gewonnenen Myosins wurde durch Viskositätsmessungen in einem Modellversuch mit Herzmuskelgewebe vom Kalb kontrolliert. Kalbsherz wurde wegen der geringen Proteinmengen, die sich aus Kaninchenherzen extrahieren lassen und für die Viskositätsmessungen nicht ausreichend waren, verwendet. Die Darstellung wird als rein betrachtet, wenn nach Zugabe von ATP keine Viskositätsniedrigung eintritt. Dazu wurde 1 ml Myosinlösung mit einem Proteingehalt von ungefähr 1 mg verwendet. Nach Zugabe von 1 mg ATP trat keine Viskositätsänderung ein.

6. BESTIMMUNG DER ATPase AKTIVITÄT DES L-MYOSIN

Als Reaktionsgemisch wurde folgende Lösung verwendet (6):

10 ml 0,5 M KCl	10 ml 0,5 M Glycinpuffer pH 9
2 ml 0,08 M Calciumchlorid	20 mg ATP Böhlinger

Dazu wurden 5 ml Myosinlösung mit unterschiedlichem Proteingehalt gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf eine Temperatur von 25°C gebracht. Die Zugabe der Myosinlösung zu dem Reaktionsgemisch wurde als Zeitpunkt t_0 festgesetzt. Anschliessend wurde nach 5 (Doppelbestimmung), 10, 15, 20, 25 und

30 Minuten 1 ml aus dem Reaktionsgemisch entnommen und die Enzymaktivität durch Zugabe von 1 ml Perchlorsäure beendet.

7. PHOSPHATBESTIMMUNG NACH LOPEZ-LOWRY (13)

Modifikation nach WEISER (24)

Die einzelnen Proben wurden nach Zugabe von 1 ml stark verdünnter Methylo-
rangelösung mit 2 ml 0,1 N Kaliumcarbonat neutralisiert. 1 ml dieser
Lösung wurde mit 6,5 ml Aqua bidest. verdünnt und 1 ml 5 N Schwefel-
säure, 1 ml Ammoniumsulfat und 0,5 ml Reduktionslösung zugefügt. Die
Extinktion wurde nach 20 Minuten bei 578 m μ mit dem Zeiss-Photometer
(PMG II) gegen den Leerwert gemessen.

Für die Aufstellung der Eichkurve wurde eine Phosphatstammlösung von
einem Gehalt von 31 μ g Phosphor pro ml entsprechend 0,136 g KH_2PO_4
auf 1000 ml verwendet. Der Ansatz enthielt:

- x ml neutralisierten HClO_4 -Extrakt bzw. hier
- 0,25 ml Stammlösung I + 7,25 ml Wasser bzw.
- 0,5 ml Stammlösung II + 7,0 ml Wasser bzw.
- 0,75 ml Stammlösung III + 6,75 ml Wasser

Bei den übrigen Messungen:

(7,5 - x) ml Wasser

Weiterhin:

- 1 ml 5 N Schwefelsäure
- 1 ml 2,5 % Ammoniummolybdatlösung
- 0,5 ml Reduktionslösung, die aus
 - 1,2 g Na_2SO_3 (wasserfrei)
 - 10,9 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ und
 - 0,2 g Metol pro 100 ml besteht.

ERGEBNISSE

BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Die Tabellen 1 zeigen die gemessenen Extinktionen, die Tabellen 2 führen die wesentlichen Resultate an. An einem Beispiel ist der Verlauf der Enzymreaktion in Abbildung 1 aufgezeichnet. Die erhöhte Rate der ATP-Spaltung im Anfang der Fermentreaktion wurde nicht erfasst, da die Umsetzung des ATP in ADP und anorganisches Phosphat erst mit der 5. Minute registriert wurde. Die erhöhte Spaltung reicht nur bis zur 2. Minute. Zu diesem Zeitpunkt erreicht die Umsatzgeschwindigkeit eine konstante Grösse, die ungefähr 3-4 mal kleiner ist als bei der Anfangsspaltung (21). Zur Erfassung der ATPase Aktivität wurde daher der 5 Minutenwert herangezogen. Die Enzymreaktion verläuft nicht ganz bis zum Aufbrauch des ATP mit gleichbleibender Geschwindigkeit. Die abgebildeten Kurven zeigen bis zur 15.-20. Minute annähernd den entsprechenden Verlauf. Die den gemessenen Extinktionen entsprechenden anorganischen Phosphatmengen werden (nach Eichkurve) in μMol angegeben. Bei der Berechnung des entstandenen Phosphats (Tabelle 2) findet der Küvettenfehler, die Verdünnung, sowie das Endvolumen des Reaktionsgemisches von 27 ml Berücksichtigung. Die Verwendung bzw. Nichtverwendung des 0,05 M Phosphatpuffers (2 bzw. 3 ml) zeigt sich in den Extinktionswerten der Myosinlösung M. Ein quantitativer Vergleich der Ergebnisse mit anderen Autoren ist nicht direkt möglich, da meist andere Versuchsanordnungen verwendet wurden (pH, Temperatur, Ionenkonzentration, Ca, Mg, K etc.). Auch lassen sich bisher keine Arbeiten in der Literatur auffinden, die entsprechende Untersuchungen, wie die hier durchgeführte ATPase Aktivitätsmessung in den verschiedenen Abschnitten des Herzmuskels, enthalten.

STATISTIK ⁺⁾

Zum statistischen Vergleich der Ergebnisse wurde der Quotient $D : e(D)$, gleich die Differenz der ausgeglichenen Mittelwerte dividiert durch den mittleren Fehler dieser Differenz, gebildet. Es ergibt sich beim Vergleich von linkem zu rechtem Ventrikel ein Quotient von 1,75, also kleiner 2, zwischen Kammer und Vorhof von 38, also grösser 3.

Wie die statistischen Berechnungen zeigen besteht kein signifikanter Un-

terschied zwischen der ATPase Aktivität des linken und rechten Ventrikels, wohingegen ein signifikanter Unterschied zwischen Vorhof- und Kammer-ATPase erkennbar ist.

Bei einem Vergleich der Ergebnisse (Mittelwerte) des innerhalb von 5 Minuten aus dem ATP entstandenen anorganischen Phosphates zwischen den beiden Kammern und dem Vorhof ergibt sich eine 3 bis 3,3fach aktivere ATPase im Vorhof als im Ventrikel.

Das Ergebnis der Untersuchungen lautet: "Die ATPase Aktivität des Vorhofes des Kaninchenherzens ist um ungefähr 3 mal grösser als die der linken Herzkammer."

+) Nach v. Mural, A. Einführung in die Praktische Physiologie
Springer Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg (1944)

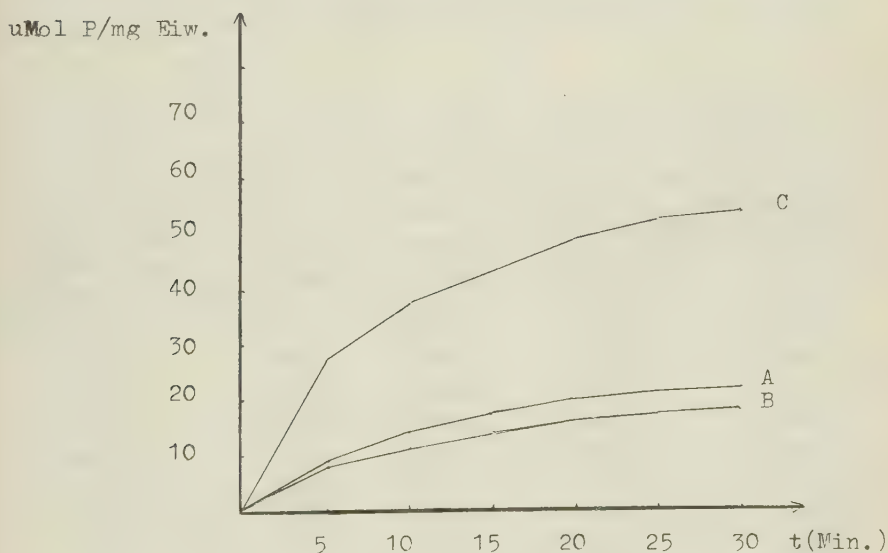


ABBILDUNG 1

Umsetzung des Adenosintriphosphates durch Herzmuskelmyosin

Ordinate: Umsatz von ATP in anorganisches Phosphat (in μMol pro mg Ei-weiss)

Abszisse: Zeit in Minuten

A = linker Ventrikel, B = rechter Ventrikel, C = Vorhof

Reaktionsgemisch: 0,5 M KCl, 0,5 M Glycinpuffer, 0,08 M CaCl_2 ,
20 mg ATP, pH = 9, Temperatur = 25°C

TABELLE 1
Linker Ventrikel

Gemessene Extinktionen:							
Tier-Nr.	Minutenwert						
	M	5	10	15	20	25	30
624	- 0,006	0,032	0,058	0,064	0,073	0,076	0,078
624	- 0,004	0,041	0,052	0,063	0,070	0,075	0,075
624	- 0,008	0,035	0,048	0,070	0,084	0,094	0,100
624	- 0,005	0,037	0,055	0,068	0,080	0,088	0,088
625	0,170	0,215	0,233	0,240	0,244	0,244	0,245
625	0,120	0,169	0,185	0,190	0,208	0,220	0,220
626	0,170	0,205	0,220	0,228	0,234	0,238	0,239
626	0,168	0,193	0,208	0,219	0,225	0,226	0,225
626	0,170	0,204	0,220	0,229	0,240	0,244	-

TABELLE 2
Linker Ventrikel

Berechnungen:				
Tier-Nr.	Proteingehalt im Reaktionsansatz	Ext.diff. 5. Minute	Posphat in μ Mol	Umsatzgeschw. anorgan. Phosphat
	in mg			in μ Mol/ml mg Min.
624	2,18	0,034	0,17	1,68
624	2,61	0,044	0,22	1,82
624	2,4	0,043	0,21	1,87
624	2,18	0,038	0,19	1,88
625	2,61	0,045	0,22	1,82
625	3,0	0,049	0,24	1,69
626	2,18	0,035	0,175	1,73
626	1,74	0,025	0,125	1,55
626	2,40	0,034	0,17	1,53

Statistische Berechnungen:

$N = 1,74$
 $l = - 0,09$
 $ll = 0,1313$
 $m = + 0,125$
 $M = + 0,041$

Erklärung der verwendeten Abkürzungen:

N = Mittelwert
 l = Abweichung vom Mittelwert
 ll = Quadrat der Abweichung
 m = Dispersion oder mittlerer Fehler
 M = mittlerer Fehler des Mittelwertes

TABELLE 1
Rechter Ventrikel

Gemessene Extinktionen:							
Tier-Nr.	Mittelwert						
	M	5	10	15	20	25	30
622	- 0,006	0,038	0,054	0,062	0,070	0,076	0,076
623	0,170	0,202	0,218	0,229	0,236	0,240	0,240
626	0,000	0,028	0,045	0,058	0,058	0,058	0,058
627	0,000	0,036	0,050	0,064	0,070	0,076	0,078
631	0,010	0,046	0,064	0,072	0,080	0,086	0,090
634	0,120	0,155	0,168	0,183	0,185	0,188	0,192
568	0,120	0,155	0,169	0,178	0,180	0,185	0,190

TABELLE 2
Rechter Ventrikel

Berechnungen:				
Tier-Nr.	Proteingehalt im Reaktionsansatz in mg	Ext. diff. 5. Minute	Phosphat in μ Mol	Umsatzgeschw. anorgan. Phosphat in μ Mol/ml mg Min.
622	2,61	0,036	0,18	1,49
623	2,18	0,032	0,16	1,58
626	2,01	0,032	0,16	1,70
627	2,40	0,042	0,21	1,87
631	2,22	0,036	0,18	1,76
634	2,18	0,034	0,14	1,40
568	2,32	0,035	0,15	1,40

Statistische Berechnungen:

$$N = 1,6$$

$$l = - 0,53$$

$$ll = 0,1570$$

$$m = \pm 0,162$$

$$M = \pm 0,0717$$

TABELLE 1
Vorhof

Gemessene Extinktionen:							
Tier-Nr.	Mittelwert						
	M	5	10	15	20	25	30
626	0,000	0,025	0,035	0,045	0,048	0,050	0,050
627	0,150	0,172	0,181	0,190	0,201	0,207	0,207
628	0,100	0,115	0,130	0,140	0,145	0,148	0,150
631	0,050	0,067	0,080	0,095	0,098	0,100	0,100
632	0,105	0,119	0,130	0,140	0,148	0,150	0,150
633	0,111	0,130	0,140	0,145	0,150	0,155	0,155
634	0,110	0,130	0,144	0,148	0,150	0,150	0,149
568	0,100	0,125	0,136	0,137	0,136	0,137	0,137

TABELLE 2
Vorhof

Berechnungen:				
Tier-Nr.	Proteingehalt im Reaktionsansatz in mg	Ext. diff. 5. Minute	Phosphat in μ Mol	Umsatzgeschw. anorgan. Phosphat in μ Mol/ml mg Min.
626	0,497	0,025	0,125	5,5
627	0,43	0,022	0,11	5,55
628	0,3	0,015	0,075	5,4
631	0,35	0,017	0,085	5,25
632	0,35	0,014	0,070	5,05
633	0,39	0,019	0,090	5,0
634	0,43	0,020	0,10	5,0
568	0,48	0,025	0,12	5,4

Statistische Berechnungen:

$$N = 5,27$$

$$l = -0,53$$

$$ll = 0,157$$

$$m = \pm 0,236$$

$$M = \pm 0,0834$$

DISKUSSION

Die Aufgabe der Interpretation kann und soll es nicht sein, irgendeine abschliessende Deutung des Ergebnisses der ausgeführten Untersuchungen zu geben. Es kann sich nur darum handeln, die unterschiedlichen ATPase-Aktivitäten in den verschiedenen Abschnitten des Herzens als ein Ergebnis in eine Reihe mit anderen Ergebnissen zu stellen und Gemeinsames oder Gegensätzliches herauszustellen. So wird es sich daher bei dieser Betrachtung mehr um eine Zusammenstellung von einigen wesentlichen bisher gefundenen Unterschieden bzw. Gemeinsamkeiten in Struktur und Funktion des Herzvorhofes und der Herzkammern (gelegentlich auch der Skelettmuskulatur) gehen.

Die ATPase Aktivität des Vorhofmyosins ist nach diesen Untersuchungen um ungefähr 3 mal aktiver als die der Herzkammern und nimmt damit gewissermassen eine Zwischenstellung zwischen der Skelettmuskulatur und der Herzmuskulatur ein.

Die bereits erwähnte enge Beziehung zwischen der ATPase Aktivität und der mechanischen Leistungsfähigkeit ist besonders von HASSELBACH (8a) betont worden. Er zeigte, dass die mechanische Leistung des Skelettmuskels um ungefähr 8 mal grösser ist als die des Herzventrikels. Ein ähnliches Zahlenverhältnis zeigen die ATPasen beider Muskelgewebe. Das mechanische Verhalten eines Muskels wird demnach weitgehend durch die Eigenschaften seines kontraktilen Proteins bestimmt. Lässt sich der Herzvorhof in seiner mechanischen Leistungsfähigkeit zwischen Skelettmuskel und Herzkammer einordnen?

Die Muskelkontraktion erfolgt aus einem Ruhezustand, bei dem die beiden miteinander in Beziehung stehenden Protofibrillensysteme keine Querverbindungen haben, weil ATP vorhanden ist, und der Abbau nicht stattfindet. Wird der Muskel nun gereizt, so wird der enzymatische Abbau des ATP durch einen Aktivator eingeleitet. Damit setzt eine Wechselwirkung zwischen Myosin, Aktin und ATP ein, die zur Folge hat, dass das System der Aktinprotofibrillen tiefer in das der Myosinprotofibrillen hineingezogen wird (10). Sobald der Abbau des ATP aufhört, bewirkt es keine Kontraktion im Myosin-Aktin-System mehr, sondern löst die Querverbindungen zwischen den beiden Protofibrillenarten. Die Leistungsfähigkeit eines Muskels äussert sich nun bei bestimmten ionalen Bedingungen in seiner maximalen Spannungsentwicklung und maximalen Verkürzungsgeschwindigkeit. Beide sind letztlich Ausdruck der pro Zeiteinheit freigesetzten Energie, d.h. des durch die Myosin-ATPase umgesetzten ATP. Man kann in dieser Beziehung die verschiedenen Muskel in schnelle und langsame einteilen. Auch die maximale Spannungsentwicklung kann dabei sehr verschieden sein. Die Unterschiede im Kontraktionsablauf werden

sich im Mechanogramm zeigen.

Die Kontraktion eines Muskels kann unterteilt werden in eine Anstiegsphase, die isotonischen bzw. isometrischen Maxima und die Erschlaffungsphase. In der Anstiegsphase spielt die Verkürzungsgeschwindigkeit eine besondere Rolle. Sie ist im wesentlichen abhängig von der jeweiligen Belastung des Muskels, von seiner Länge l_0 und von der Temperatur. Ihren maximalen Wert erreicht sie beim schnelleren Warmblütermuskel wegen der Trägheit des Muskels und des Hebelsystemes relativ spät in der Anstiegsphase und dieser Wert wird dann auch nur etwa 25 % der Anstiegsdauer gehalten. Leider liegen keine verwertbaren Angaben über die maximale Verkürzungsgeschwindigkeit von Vorhofmuskelfasern vor, die für einen Vergleich mit der ATPase Aktivität herangezogen werden könnten. Einen gewissen Anhaltspunkt gibt daher hier nur die Dauer der Anstiegszeit. Die Gesamtverkürzung Δl_g ergibt sich aus dem Produkt der mittleren Verkürzungsgeschwindigkeit während der Anstiegsphase und der Dauer der Gipfelzeit (vom Zeitpunkt des Anstiegsbeginns bis zum Zeitpunkt des Zuckungsgipfels).

$$\Delta l_g = v_m \cdot t_a$$

Die Anstiegszeit des Rattenvorhofes beträgt in einer Krebs-Ringer-Bicarbonatlösung von 30°C und dem pH von 7,4 bei einer Reizfrequenz von 200/Minute 45 msec. (20), die des Papillarmuskels des rechten Ventrikels der Katze in einer Tyrodelösung von 38°C und dem pH von 7,1-7,4 bei einer Reizfrequenz von 200/Minute 82 msec. (19). Diese Zahlen ergeben verständlicherweise keine genaue Vergleichsmöglichkeit zwischen der ATPase Aktivität und der Verkürzungsgeschwindigkeit, da die Werte von verschiedenen Tierspezies stammen, doch darf darin vielleicht ein Hinweis gesehen werden, dass der Vorhof seine mechanische Aktivität schneller entwickelt als der Herzventrikel. Ein direkter Vergleich mit der maximalen Spannungsentwicklung ist ebenfalls nicht möglich, da entsprechende Versuche zu fehlen scheinen. Damit lässt sich keine genaue Aussage machen, ob beim Vorhof ähnliche Beziehungen zwischen der ATPase Aktivität und der mechanischen Leistung besteht und ihm in dieser Beziehung eine Stellung zwischen dem Skelett- und Herzmuskel zukommt.

Bestehen noch andere Unterschiede zwischen Vorhof und Kammern, die auf eine andersartige Differenzierung der Herzabschnitte hinweisen?

Die makroskopische Betrachtung ergibt beträchtliche Unterschiede in der Dicke der Wände von Arterien und Ventrikeln. In ihnen spiegelt sich ebenso wie in den Differenzen der Gewichte von Kammern und Vorhöfen der Anteil der verschiedenen Herzabschnitte an der motorischen Leistung. Beide Vorhöfe sind dünnwandig und an manchen Stellen fehlt die Muskulatur vollständig (1). Diese Feststellungen entsprechen, wie die noch zu erwähnenden mikroskopischen

Unterschiede, der Tatsache, dass die Vorhöfe weniger Triebwerk als vielmehr Reservoir sind.

Die mikroskopischen Untersuchungen zeigen zunächst einmal Differenzen in der Zusammensetzung der Muskulatur zwischen Vorhof und Kammer. Das Bindegewebsgerüst der Vorhöfe ist viel reichlicher entwickelt als das der Ventrikel, zudem scheint das Kaliber der Vorhofmyokardfasern im Gegensatz zu denen des Ventrikels innerhalb wesentlich weiterer Grenzen zu wechseln. Durchschnittlich sollen die Muskelzellen des Vorhofes auch kleiner sein (14). Das elastische Gewebe findet sich in der Vorhofmuskulatur in einer so erheblichen Masse, dass man dadurch "direkt an den Bau der grossen Gefässe erinnert wird, während in der Kammer nur feine Netze zu finden sind." (14)

Die elektronenmikroskopischen Bilder liefern zum Teil Strukturen, über deren Bedeutung noch weitgehend Unklarheit herrscht (11). Die Sarkolemm-Membran im Herzmuskel soll strukturell anders gebaut sein als beim Skelettmuskel. Die Z-Bänder sind in der Herzmuskelfaser deutlicher sichtbar. Das Sarkolemm hat besonders bei Vorhof und Kammer girlandenförmigen Verlauf mit gelegentlichen Einziehungen, die mit den Z-Bändern verbunden sind. Bei der Vorhof- und Zwerchfellmuskulatur sieht man häufig in solchen Taschen Massen von Sarkosomen angehäuft. Seltener ist dies bei den Muskelfasern der Herzkammern der Fall. Die Myofibrillen haben den gleichen Aufbau. Die Protofibrillen eines Skelettmuskels (*M. pectoralis*) haben einen Durchmesser von ungefähr $250 \text{ \AA}$, die des menschlichen Vorhofes $150 \text{ \AA}$. Die Querstreifung zeigt keine Unterschiede zwischen Vorhof und Ventrikel. Die Sarkosomen, die eng mit den Stoffwechselvorgängen der Zellen verbunden sind, können in ihrer mengenmässig unterschiedlichen Verteilung in den verschiedenen Muskeln als ein Ausdruck der Leistungsfähigkeit des Muskelgewebes aufgefasst werden. Die Mehrzahl der Sarkosomen im Herzvorhof besonders im Bereich der Z-Zonen sind kleiner als die der Muskelfaser der Herzkammer. Für die Vorhofmuskulatur ist ein Polymorphismus der Sarkosomen bezeichnend. Ausserdem findet sich im Vorhof eine andere Verteilung der Sarkosomen. Der Durchmesser der Ventrikelsarkosome beträgt $0,5-1,0 \mu$, der der Vorhofsarkosome $0,1-0,3 \mu$. KISCH (11) nimmt diesen Unterschied als Hinweis dafür, dass die biochemischen Vorgänge von Vorhof und Ventrikel nicht absolut identisch sind. Die Masse der Sarkosomen übertrifft im Ventrikel stellenweise die Anzahl der Myofibrillen. Leider liegen über die Zahl der Sarkosomen im Vorhof keine entsprechenden Angaben vor. Typische Unterschiede zwischen den Kernen der Vorhöfe und Kammern konnten bisher nicht erwiesen werden. Doch scheinen die länglichen, ellipsoiden Kernformen in der Muskelfaser der Kammer zu überwiegen, während die mehr bizarr geformten Muskelkerne im Vorhof nicht selten sind.

Die chemischen Analysen der verschiedenen Abschnitte des Herzens ergeben u.a. den höchsten Aktomyosingehalt im linken Ventrikel, der die meiste Arbeit pro Gewichtseinheit zu leisten hat, den geringsten im Vorhofgewebe (12). Ebenfalls zeigen sich deutliche Unterschiede in der Eiweisszusammensetzung (15). Der Gesamteiweissgehalt des rechten Ventrikels unterscheidet sich praktisch nicht von dem des linken Ventrikels, während er im Vorhofmyokard niedriger gefunden wird. Der Gehalt an löslichen Proteinen ist im rechten Ventrikel kleiner als im linken, am geringsten in den Vorhöfen. Der relative Gehalt an Aktomyosin und löslichem nicht kontraktilen Protein nimmt ebenfalls in gleicher Richtung ab. Die unlösliche Fraktion dagegen ist im rechten Ventrikel und Vorhof höher als im linken Ventrikel. Die Glykogenkonzentration ist in den Kammern niedrig, soll aber in der rechten Kammer höher als in der linken sein (3). Der Gehalt an Phosphokreatin und ATP ist in den Ventrikeln um 60-80 % höher als in den Vorhöfen (23). Die rechte Kammer enthält mehr Phosphokreatin als die linke und ebensoviel ATP. - Zu den angeführten Daten kann gesagt werden, dass sie in irgendeiner Beziehung zur Funktion des bestimmten Herzabschnittes stehen. Mit welchem Vorbehalt manche Befunde zu deuten sind, zeigt die Tatsache, dass ein unmittelbarer Zusammenhang zwischen der mechanischen Aktivität eines Muskels einerseits und der Konzentration der energiereichen Phosphate andererseits nicht gefunden werden konnte (8c). Ein "gewisser Zusammenhang" (8c) scheint nur insofern zu bestehen, als in den Muskeln, die sehr schnell grosse Energiebeträge in mechanische Arbeit umwandeln können, die Konzentration der energiereichen Phosphate wesentlich höher ist als in den Muskeln, die dies nicht können. So ist der ATP- und Kreatinphosphatgehalt im Skelettmuskel des Warmblütlers 2 mal grösser als im Herzmuskel (8b).

Die Ruhe- und Aktionspotentiale der erregbaren Muskelfasern verhalten sich grössenordnungsmässig gleich. Verschieden sind dagegen die zeitlichen Abläufe. Am Herzmuskel ist der unterschiedliche Verlauf der Stromkurve für Ventrikel, Vorhof und Erregungsleitungsfasern bemerkenswert. Die Ventrikelmuskulatur zeigt, wie die Vorhofsmuskulatur während der Diastole ein konstantes Ruhepotential. Die De- und Umpolarisation bis zum Gipfel des Spitzenpotentials erfolgt in 1-2 msec. Die Repolarisation dauert 100-200 msec. und verläuft unter Plateaubildung. Zwischen der verzögerten Repolarisation mit Plateaubildung des Herzmuskels und der schnellen Repolarisation ohne Plateaubildung des Skelettmuskels gibt es alle Übergänge. So weist der Vorhofsmuskel kein Plateau auf, wohl aber eine gegenüber dem Skelettmuskel verzögerte und im Vergleich zur Ventrikelmuskulatur stetigere Repolarisation auf (1). Das Verhältnis von Depolarisations- zur Repolarisationszeit liegt beim Skelettmuskel bei 1 : 10, beim Herzventrikel bei 1 : 300 (17). Der Vorhof liegt zwischen diesen beiden Grenzwerten und zeigt mehr Ähnlichkeit mit dem Skelettmuskel.

Die Ursache des unterschiedlichen Verlaufes der Stromkurven bei den einzelnen Muskeln wird in der unterschiedlichen Struktur der Muskelgrenzmembranen und der damit verbundenen Ionenwanderung während des Erregungsablaufes gesucht. So lässt sich ein Plateauverlust durch kaliumarme Lösungen erzielen. Zudem führt jede Verstärkung des Kaliumausstromes zu einer schnelleren Beendigung der Erregung, d.h. zu einer Abkürzung des Plateaus und damit der Refraktärzeit (5). Die Refraktärzeit dauert am Herz- wie Skelettmuskel so lange bis die Repolarisation den kritischen Wert von 60 mV erreicht hat (17). Der Ventrikel des Hundes erreicht diesen Wert unter normalen Calciumkonzentrationen nach ungefähr 370 msec., der Vorhof des gleichen Tieres nach ungefähr 100 msec. Durch steigende Calciumkonzentration kann die Repolarisation beschleunigt werden und die Verkürzung des Plateaus erreicht werden. Der Ablauf des Aktionspotentials des Ventrikels ist dann dem Verhalten des Vorhofes unter normalen Bedingungen sehr ähnlich (9). Magnesiumionen haben einen den Calciumionen entgegengesetzten Effekt. Nach den Untersuchungen von CALDWELL (2) ist es sehr wahrscheinlich, dass die Energie für den aktiven Transport der Ionen aus der Spaltung energiereicher Phosphorverbindungen gewonnen wird. Eine Beteiligung der Myosin-ATPase an diesem Vorgang ist nicht bekannt.

Stoffwechsel. "Wenn eine enge Beziehung zwischen der ATPase Aktivität und dem mechanischen Leistungsvermögen der kontraktile Proteine bestehen soll, so muss auch die Aktivität der ATP liefernden Reaktionen -Glykolyse und oxydative Phosphorylierung- dem mechanischen Leistungsvermögen angepasst sein." (8c) Denn nur dann kann der für die Funktion notwendige ATP-Spiegel aufrecht erhalten werden. In der Skelettmuskulatur sind die Fermente des anaeroben Glucoseabbaues (Meyerhof-Cyclus) im Cytoplasma besonders aktiv, wodurch diese Muskel von der Sauerstoffversorgung für die kurze Zeit maximaler Leistung unabhängiger sind. Die geringe Aktivität der oxydativen Energiegewinnung reicht aus, um in den Pausen zwischen den Arbeitsphasen die Endprodukte des anaeroben Abbaues der Kohlenhydrate zu beseitigen. Im Herzmuskel, der ständig Arbeit leisten muss, hat das Fermentsystem der oxydativen Energiegewinnung eine vergleichsweise sehr viel grössere Aktivität als die Fermente des Meyerhof-Cyclus. Die Atmungsaktivität pro Gramm Gewebe ist sehr viel grösser als in der Skelettmuskulatur. Dabei zeigen sich wiederum unterschiedliche Verhältnisse in den einzelnen Abschnitten des Herzmuskels, auch in der Fähigkeit zur Glykolyse. Zellatmung und Glykolyse sind in Gewebsschnitten aus Rattenherzen im Vormyokard wesentlich stärker als im Ventrikelgewebe, bei welchem der rechte Ventrikel eine höhere Glykolyserate zeigt als der linke Ventrikel (16). Beide, Glykolyse und Zellatmung, sind im Vorhofmyokard der Ratte etwa 3 mal so gross wie im linken Ventrikel. "Diese

unterschiedliche Fähigkeit zur anaeroben Glykolyse bzw. Zellatmung ist ein weiteres Beispiel für die funktionelle Differenzierung des Herzmuskels" (NOWY, 16).

Die Ausführungen zeigen, dass der Herzmuskel in seinen Kammern und Vorhöfen in Abhängigkeit von seiner funktionellen Beanspruchung verschieden differenziert ist. Der Vorhof zeigt oftmals einen anderen Aufbau und eine andere Funktion als die Herzkammern und ähnelt dabei mehr dem Skelettmuskel bzw. nimmt eine Stellung zwischen den beiden anderen Herzabschnitten und dem Skelettmuskel ein. In einigen Merkmalen zeigen sich aber auch Gemeinsamkeiten. Abschliessend kann man mit WEBER und PORTZEHL sagen, dass in den einzelnen sich am Muskel abspielenden Vorgängen, Glieder einer Reaktionskette zu sehen sind, in deren Mittelpunkt jeweils eine besondere Form der vitalen Kontraktion steht (22).

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde die Myosin-ATPase Aktivität in den verschiedenen Abschnitten des Kaninchenherzens bestimmt. Dabei ergab sich, dass die Vorhof-ATPase ungefähr 3 mal aktiver ist als die des linken und rechten Ventrikels. Zwischen den beiden Kammern konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Es wurde die ATPase Aktivität im Zusammenhang mit anderen unterschiedlichen Werten in Vorhof und Kammer des Herzens betrachtet.

Abschliessend möchte ich Herrn Prof. Dr. H. NOWY für die mir gewährte Unterstützung danken und Herrn Prof. Dr. W. SEITZ dafür, dass ich in seiner Klinik arbeiten konnte.

LITERATURVERZEICHNIS

A. ÜBERSICHTSARBEITEN:

- I. Bargmann, W., Doerr, W.
Das Herz des Menschen
Thieme Verlag Stuttgart (1963)
- II. Reichel, H. Muskelphysiologie
Springer Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg (1960)
- III. Szent-Györgyi, A.
Contraction in body and heart muscle
Acad. Press New York (1953)

B. EINZELARBEITEN:

1. Burgen, A.S.V., Terroux, K.G.
On the negative inotropic effect on the cat auricle
J. Physiol. 120, 448 (1953 b)
2. Caldwell, P.C. The phosphorus metabolism of squid axons and its relationship of the active transport of sodium
J. Physiol. 152, 545 (1960)
3. Davis, F. The distribution of nucleotide, phosphocreatin and glycogen in the heart
J. Physiol. 106, 154 (1947)
4. Kay, C.M., Green, A.W.
Physicochemical and enzymatic studies on cardiac myosin A
Circulat. Res. 15, 38 (1964)
5. Fleckenstein, A. Der Kalium-Natriumaustausch als Energieprinzip in Muskel und Nerv
Springer Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg
6. Gelotte, B. Myosin from cardiac muscle
Biochim. et Biophys. Acta 7, 378 (1951)
7. Hallmann, L. Klinische Chemie und Mikroskopie
Thieme Verlag Stuttgart (1961)

8. Hasselbach, W.
a) Struktur und Stoffwechsel des Herzmuskels
I. Symposium Med. Univ. Klin. Münster, herausgeg. v.
W.H. Hauss und H. Losse, Thieme Verlag Stuttgart (1959)
b) Verh. Dtsch. Ges. Kreislaufforsch. 27, 144 (1961)
c) Fortschr. d. Zoologie
Fischer Verlag Stuttgart (1963)
9. Hoffmann, B.F., Suckling, E.E.
Effect of several cations on transmembrane potentials of
cardiac muscle
Amer. J. Physiol. 186, 317 (1956)
10. Huxley, H.E. Die Muskelkontraktion
Endeavour 60, 177 (1956)
11. Kisch, B. Verh. Dtsch. Ges. Kreislaufforsch. 18, 1 (1952)
Der ultramikroskopische Bau von Herz und Kapillaren
Steinkopff Verlag Darmstadt (1957)
12. Kovats, J. Myosin and actomyosin content of heart muscle
Nature 163, 606 (1949)
13. Lopez, O.H., Lowry, J.H.
The determination of inorganic phosphate in the of labile
phosphate esters
J. Biol. Chem. 162, 421 (1946)
14. Minervini, G., Mönckeberg, J.G.
Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Hi-
stologie, herausgeg. v. F. Hanke und O. Lubarsch
Springer Verlag Berlin 2, 299 (1926)
15. Nowrusi, L. Über die Proteinzusammensetzung verschiedener Herzabschnit-
te
Diss. München (1963)
16. Nowy, H. Die anaerobe Glykolyse des Rattenherzens im Verlauf des
postnatalen Wachstums und ihre Bedeutung für die Herztä-
tigkeit
Z. exper. Med. 126, 73 (1955-1956)
17. Reichel, H. Muskelphysiologie
Springer Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg (1960) 44

18. Straub, F.B., Feuer, G.
ATP, the functional group of actin
Biochim.et Biophys.Acta 4, 455 (1950)
19. Trautwein, W., Dudel, J.
Das Aktionspotential und Mechanogramm des Warmblüterherzens als Funktion der Schlagfrequenz
Pflügers Arch.260, 24 (1954-55)
20. Webb, J.L., Hollander, P.B.
Metabolic aspects of the relationship between the contractility and membrane potentials of the rat atrium
Circulat.Res.4, 618 (1956)

Cellular membrane potentials and contractility of the normal rat atrium
Circulat.Res.3, 604 (1955)
21. Weber, A., Hasselbach, W.
Erhöhung der Rate der ATP-Spaltung durch Myosingle bei Beginn der Spaltung
Biochim.et Biophys.Acta 15, 237 (1954)
22. Weber, H.H., Portzehl, H.
Kontraktion, ATP-Cyclus und fibrilläre Proteine
Erg.Physiol.47, 404 (1952)
23. Weidmann, S. Effect of current flow on the membrane potential of cardiac muscle
J.Physiol.115, 227 (1951)
24. Weiser, H. persönliche Mitteilung (Biochem.Institut der TH München)

LEBENS LAUF

Am 26. Januar 1940 wurde ich, Bernd Marquardt, als Sohn des Chirurgen Dr. med. Alfred Marquardt und seiner Frau Anneliese, geborene Herwig, in Kassel geboren. Meine ersten Lebensjahre verbrachte ich mit meinen Eltern und meinen drei Geschwistern in meiner Heimatstadt, wo ich auch später die Volksschule und das Wilhelm-Gymnasium besuchte. 1960 bestand ich die Reifeprüfung. Anschliessend studierte ich bis zum Physikum, das ich 1962 bestand, an der Universität Marburg. Darauf schlossen sich zwei Semester klinischen Studiums an der Universität Hamburg an. Zum Abschluss meines Studiums ging ich an die Universität München, wo ich im Dezember 1965 das Staatsexamen bestand.

